Dünnschichtchromatographischer und infrarotspektroskopischer Nachweis von Barbituraten

WOLFGANG KOMM

1972

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546016_0025

Aus dem Institut
für gerichtliche und Versicherungsmedizin
der Universität München

Direktor:
Professor Dr. Spann

Dünnschichtchromatographischer und infrarotspektroskopischer Nachweis von Barbituraten

INAUGURAL - DISSERTATION

zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfaßt und einer Hohen Medizinischen Fakultät der Ludwig Maximilians-Universität
zu München

vorgelegt von
WOLFGANG KOMM
München

München 1972

Mit Genehmigung

der Medizinischen Fakultät

der Universität München

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Berichterstatter:	Univ.-Doz. Dr. G. Hauck
Mitberichterstatter:	Prof. Dr. W. Spann
Dekan:	Prof. Dr. W. Spann
Tag der mündlichen Prüfung:	27. Juni 1972

I N H A L T

A Einleitung

I. Bedeutung der Barbiturate in der Toxikologie

II. Nachweis von Barbituraten

III. Eigene Problemstellung

B Eigene Versuche

I. Dünnschichtchromatographie

a) Verwandete Geräte und Substanzen

b) Versuchsbeschreibung

c) Ergebnisse mit Fließmitteln

d) Systematische Identifizierung

II. Infrarotspektroskopie mit Reinsubstanzen

a) Verwendete Geräte und Substanzen

b) Anfertigung der Preßlinge

c) Neue Spektren

III. Infrarotspektroskopie mit biologischem Material

a) Ausarbeitung einer Methode anhand eines praktischen Falles

b) Beschreibung der Methode

C Zusammenfassung

D Literaturverzeichnis

E I N L E I T U N G

I. Bedeutung der Barbiturate in der Toxikologie

In der Rechtsmedizin spielen die Barbiturate eine bedeutende Rolle, da sie trotz des Vordringens von Psychopharmaka und rezeptfreien Bromharnstoffen bei Mord - und Selbstmordfällen immer noch weit verbreitet sind.
Bei akuten Vergiftungen gibt die Symptomatik oft keinen klaren Hinweis auf das Gift, was bei eventueller Barbituratvergiftung den Nachweis desselben erforderlich macht.
Da einige Barbiturate eine lange Wirksamkeit besitzen und im Körper eine Wechselwirkung mit Alkohol hervorrufen (18), spielt ihr Nachweis in der Verkehrsmedizin eine wichtige Rolle.

II. Nachweis der Barbiturate

Dem Nachweis von Barbituraaten dienen mehrere Verfahren, u.a. die Dünnschichtchromatographie (21), die Infrarotspektroskopie (1), die Gaschromatographie (22), die UV - Spektroskopie (9), die Kristall - optik (20), die Papierchromatographie (20), die Schmelzpunktbestimmung (12).

Jedes dieser Verfahren ist mit Nachteilen verbunden. Ein ideales Nachweisverfahren für Barbiturate existiert noch nicht.

III. Eigene Problemstellung

Diese Arbeit befaßt sich mit dem Nachweis von Barbituraten mittels der Dünnschichtchromatographie und der Infrarotspektroskopie.
In der Dünnschichtchromatographie existiert kein Fließmittel, welches die Vielzahl der Barbiturate so deutlich trennt, daß eine sichere Aussage gestattet wäre.
Deshalb ist es ein Ziel dieser Arbeit, aus elf gebräuchlichen Fließmitteln mehrere geeignete auszusuchen und aus diesen ein System zu entwickeln, bei dem eine eindeutige Analyse möglich ist.
Um der großen Zahl der im Handel befindlichen Barbiturate zu begegnen, bezieht diese Arbeit 28 Barbiturate in Reinsubstanz in die Versuche ein, wobei - im Gegensatz zu früheren Arbeiten - alle wichtigen Barbiturate erfaßt sind.
In der Infrarotspektroskopie soll die Liste der Barbiturat - Reinsubstanz - Spektren, soweit diese in der einschlägigen Literatur noch nicht erschienen sind, ergänzt werden.
Schließlich soll eine Methode ausgearbeitet werden, welche unter Elimination von Verunreinigungen den Nachweis eines Barbiturates aus biologischem Material durch die Infrarotspektroskopie erlaubt, und die Bestätigung und Sicherung einer dünnschichtchromatographischen Analyse ermöglicht.

Tabelle 1 : Tabelle der Barbiturate

Ziffer lt. Tab.	Name	ungesättigte Verb.	cyclisch	Substituenten B=Brom S=Schwefel	Schmelzpunkte (K = Kuhnert - Brandstätter (12) C = Clarke (4) E = eigene Versuche)		Formel
5	Allobarb.	*			172 - 174	C	5-5Diallyl - BS
23	Amobarb.				155 - 158	C	5 - Aethyl - 5 - isopentyl - BS
12	Aprobarb.	*			141 - 143	C	5- Isoprppyl - 5 - allyl - BS
1	Axeen	*			148 - 151	E	5 - Allyl - 5 - (ß-hydroxypropyl) - BS
4	Barbital				189 - 192	C	5,5 - Diaethyl - BS
3	Brallobarb.	*		B	173	E	5- Allyl - 5 - (2-bromallyl) - BS
16	Butalbital	*			138 - 139	C	5 - Isobutyl - 5 - allyl - BS
21	Butabarb.				165	K	5 - Aethyl - 5 - sec. - butyl - BS
22	Butallylonal	*		B	130 - 133	C	5 - sec. - Butyl - 5 - (2-brom-allyl) - BS
17	Butobarb.				122 - 125	C	5 - Aethyl - 5 - Butyl - BS
10	Butyvinal	*			86 - 87	E	5 - Vinyl - 5 - (2'-amyl) - BS
14	Crotarbital	*			117	K	5 - Aethyl - 5 - (d2-butenyl) - BS

6	Cyclobarb.	*	*		171 - 174	6	5 - Aethyl - 5 - (cyclohexen-(1)-yl) - BS
11	Cyclopentobarb.	*	*		138 - 141	E	5 - Allyl - 5 - (cyclopenten-(2)-yl) - BS
13	Dormovit	*	*		171	K	5 - Furfuryl - 5 - isopropyl - BS
9	Heptabarb.	*	*		172	C	5 - Aethyl - 5 - (cyclohepten-(1)yl) - BS
19	Hexamid		*				5 - Aethyl - 1 - (2-diaethylamino-aethyl) - 5 - phenyl - BS
27	Hexobarb.	*	*		145	C	1,5 - Dimethyl - 5 - (cyclohexen-(1)-yl) - BS
25	Methitural	*		S	88 - 93	K	5 - (2-methylmercapto-aethyl) - 5 - (1-methyl-butyl) - 2 - thio - BS
28	Methohexital	*			94	E	1 - Methyl - 5 - allyl - 5 - (1-methyl-pentin-(2)-yl) - BS
8	Methylphenobarb.		*		178 - 181	C	1 - Methyl -5 - aethyl- 5 - phenyl - BS
24	Pentobarb.				129	K	5 - Aethyl - 5 - (1-methyl-butyl) - BS
2	Phenobarb.		*		174 - 177	C	5 - Aethyl - 5 - phenyl - BS
7	Propallylonal	*		B	183	K	5 - Isopropyl - 5 - (2-bromallyl) - BS
18	Propylbarb.				148	K	5,5 - Dipropyl - BS
26	Secobarb.	*			92 - 100	K	5 - (1methyl-butyl) - 5 - allyl - BS
15	Sigmodal	*		B	129 - 131	E	5 - (1-methyl-butyl) - 5 - (2-bromallyl) - BS
20	Talbutal	*			107 - 110	E	5 - sec. - Butyl - 5 - allyl - BS

E I G E N E V E R S U C H E

I. DÜNNSCHICHTCHROMATOGRAPHIE

a) Verwendete Geräte und Substanzen:

Pipetten (5 µl und 10 µl)
DC - Platten, Alu - Fertigfolien, Fa.Schleicher - Schüll A 1500 LS 254
Trennkammern mit aufgeschliffenem Deckel
Meßgläser
Föhn bzw. Abzug

Barbiturate (im weiteren Verlauf mit B. abgekürzt) als Reinsubstanz (siehe Tab.1)
Aethanol
Fließmittel (siehe Tab.2)
Schmierfett
Kapsenberg - Schmiere
Färbungsreagenzien (siehe unten)

b) Versuchsbeschreibung:

Die dünnschichtchromatographischen Versuche wurden im Prinzip nach S t a h l (21) durchgeführt, mit folgenden erwähnenswerten Einzelheiten:

Anfertigung der Lösungen:

Je 10 mg B. wurde in 1 mg Aethanol gelöst.

Vorbereitung der Platten:

1,5 cm vom unteren Rand der Platte entfernt wurden je 2 - 3 ul

der Barbituratlösung (also 20 - 30 ug Substanz) mit 1,2 cm Abstand voneinander mit einer Pipette punktförmig aufgetragen. Es waren jeweils zwei Platten nötig, um alle 28 B. aufzutragen.

Vorbereitung der Trennkammern:

Als Dichtmaterial wurde zunächst Schliffett verwendet, später Kapsenberg - Schmiere, welche besser abdichtet und im Fließmittel nicht löslich ist.
Nach Eingabe von 100 ml Fließmittel wurde mindestens 45 Minuten zur vollständigen Kammersättigung gewartet.
Um Schwankungen der RF-Werte durch eine Verschiebung des Mischungsverhältnisses des Fließmittels zu verhindern, wird empfohlen, das Fließmittel nach jeder gelaufenen Platte neu anzusetzen.

Platte in Trennkammer:

Beim Einsetzen der Platte in die Kammer wurde darauf geachtet, durch möglichst wenig Luftstrom die Kammersättigung nicht "wegzublasen". Zur Vermeidung stärkerer bzw. asymetrischer Randeffekte wurde die Platte genau in die Mitte der Kammer gesetzt. Das Auskleiden der Seitenwände mit Löschpapier bringt bei vollständiger Abdichtung der Kammer kaum Vorteile.
Die Laufhöhe des Fließmittels betrug stets 10 cm (-10,5 cm).

Auswertung der Platten:

Die Platten wurden getrocknet,und die Punkte unter dem UV- Licht bzw. durch Färbung markiert.

Wichtige Färbemethoden:

1. Chlor / o - Dianisidin (5):

a) Chloratmosphäre: Ein 100ml - Becherglas mit 20 ml gesättigter $KMnO_4$ - Lösung wird in eine Trennkammer gestellt. Nach Zugabe von 5 ml 20%iger Salzsäure läßt man bei geschlossenem Deckel das Chlorgas sich entwickeln. Die Chlor - kammer soll nicht im direkten Tageslicht und nach Möglichkeit in einem Abzug stehen.

b) Sprühlösung: 100 mg o - Dianisidin werden in 20 ml Eidessig gelöst und zu einer Lösung von 1 g Kaliumjodid in 230 ml destilliertem Wasser gegeben.

c) Ausführung: Die DC-Chromatogramme werden 4 - 8 Minuten in die Chlorkammer gestellt und danach 8 - 15 Minuten im Abzug liegengelassen. Beim anchließenden Besprühen der Platten soll der Untergrund möglichst hell bleiben. Auf der Kieselgelschicht adsorbiertes überschüssiges Chlor stört den Nachweis.

2. $HgNO_3$ - Sprühlösung: $HgNO_3$ (1% in Wasser) (207)

3. $KMnO_4$ - Sprühlösung: $KMnO_4$ (0,05% in Wasser) (144)

Die hinter 2. und 3. gesetzten Nummern beziehen sich auf die vin K. G. K r e b s, D. H e u s s e r, und H. W i m m e r in E. S t a h l angegebenen Sprühreagenzien (21).

c) Ergebnisse mit Fließmitteln

Es wurden insgesamt elf Fließmittel untersucht (siehe Tab.2). Mit jedem Fließmittel wurden mindestens drei Versuche unternommen, d.h., jedes B. ist in jedem Fließmittel mindestens dreimal gelaufen.

Diskussion der Fließmittel

Mit Ausnahme zweier Fließmittel (1 und 5; Tab.2) waren die Erfahrungen mit den einzelnen Fließmitteln teilweise recht entmutigend. Beeinflußt von Faktoren, die bei normalem Laboraufwand kaum in den Griff zu bekomme sind (Temperatur, Luftf euchtigkeit, Aktivität der Platte, gegenseitige Beeinflussung der B.), wiesen die RF-Werte zum Teil erhebliche Schwankungen auf.
Um eine übersichtliche und schnelle Beurteilung der einzelnen Fließmitte zu ermöglichen, haben wir diese nach drei Gesichtspunkten benotet: (siehe Tab.2):

a) Qualität der Trennung
b) Konstanz der RF-Werte
c) Konstanz des Verhältnisses der RF-Werte zueinander

Noten: 1 = sehr gut; 2 = gut; 3 = mäßig; 4 = schlecht;
5 = sehr schlecht.

Tabelle 2 : Fließmittel

Nummer	Zusammensetzung	Mischungsverhältnis	Literaturverzeichnis	durchschn. Laufzeit (10cm) in Minuten	Qualität der Trennung	Konstanz der RF - Werte	Konstanz des Verhältnisses d. Rf - W. zueinander
1	Diaethylaether Aceton Dioxan NH_3	30 30 30 10		55	2	2	1
2	Chloroform Aceton	90 10	(2)	65	3	4	4
3	Diaethylaether n-Butanol NH_3	90 10 10	(24)	55	2	5	3
4	Petroleumbenzin Dioxan	75 30	(19)	65	3	4	3
5	Cyclohexan Dioxan Aethylacetat Aethanol/NH_3	15 15 40 20/10	(14)	70	3	2	1
6	Chloroform n - Butanol NH_3	70 40 10	(14)	100	2	4	3
7	Chloroform iso - Propanol NH_3	45 45 10	(7)	125	4	3	3
8	Piperidin Petroleumbenzin	20 80	(6)	70	4	4	3
9	Diaethylaether Tetrachlkohlst.	95 5	(10)	55	5		
10	Chloroform Diaethylamin	90 10	(23)	80	5		
11	Chloroform Diaethylamin Cyclohexan	70 10 20	(23)	80	5		

Als bestes Fließmittel erwies sich das Gemisch 1,

Diaethylaether - Aceton - Dioxan - NH_3 (30:30:30:10),

welches aus dem von J. L e h m a n n und V. K a r a m u s t a - f a o g l u (14) angegebenen Fließmittel abgeleitet wurde und durch Ersatz des Petrolaethers durch Diaethylaether noch bessere Trennungen ergab.

a) Kein anderes Fließmittel trennt besser;

b) Die RF-Werte sind recht konstant;

c) Die Reihenfolge der B. nach aufsteigenden RF-Werten war stets die gleiche.

SYSTEM ZUR IDENTIFIZIERUNG EINES UNBEKANNTEN BARBITURATES

- A -

Als Standardfließmittel ist das Gemisch

Diaethylaether - Aceton - Dioxan - NH_3 (30:30:30:10)

aus den obengenannten Gründen am geeignetsten.
Die 28 Barbiturate lassen sich in diesem Fließmittel am besten in 7 Gruppen unterteilen (siehe Abb. 1)
Es empfiehlt sich nun, bei der Analyse eines unbekannten B. aus jeder der 5 großen Gruppen (2 - 5) ein B. als Standard mitlaufen zu lassen. Dadurch kann man - unabhängig vom RF - Wert - das unbekannte B. genau in eine der Gruppen einordnen bzw. an die Grenze zweier Gruppen.
Um Fehler durch Randeffekte, gegenseitige Beeinflussung der B. usw. so weit wie möglich auszuschließen, sollte man - soweit genügend Substanz vorhanden ist - die Standards und das unbekannte B. mehrmals in gemischter Reihenfolge auftragen, etwa nach dem Schema:

S1-S2-Ⓧ-S3-S4-S5-Ⓧ-S1-S2-S3-S4-S5-Ⓧ

Als Gruppenstandards schlagen wir folgende B. vor:

Für	Gruppe	2	:	Allobarbital
"	"	3	:	Heptabarbital
"	"	4	:	Butalbital
"	"	5	:	Butabarbital
"	"	6	:	Secobarbital

- B -

Die Gruppenzuordnung mache man nach Möglichkeit unter dem UV - 254 - Licht, um danach durch Besprühen der einen Hälfte der Platte mit einer $KMnO_4$ - Lösung (0,05% in Wasser) festzustellen, ob das unbekannte B. eine ungesättigte Bindung enthält.
Verläuft diese Probe eindeutig positiv (Gelbfärbung des Punktes) oder negativ (keine Gelbfärbung des Punktes), so kann man den Kreis der in Frage kommenden B. meist schon einschränken.
Folgende B. zeigen keine (oder nur eine ganz minimale) $KMnO_4$ - Reaktion (Namen zu den Ziffern auf Tab. 1 und Abb. 1):

2,4,8,17,19,21,23,24.

- C -

Nun folgt die weitere Differenzierung aus einer Gruppe von 2 - 5 in Frage kommenden B.
Hierfür kommen - je nach Lage des unbekannten B. im Standardfließmittel - 4 weitere Fließmittel in Betracht (siehe Tab. 3 und Abb. 2)
Um von RF-Wert - Schwankungen unabhängig zu sein, trägt man auf die Platte alle in Frage kommenden B. zusammen mit dem unbekannten B. auf, und zwar nach Möglichkeit wieder mehrmals und in gemischter Reihenfolge (deshalb wäre es für eine zuverlässige Analyse unbedingt erforderlich, alle B. als Lösung im Labor zu haben).
Mit der Verwendung eines zweiten Fließmittels läßt sich in den meisten Fällen das B. schon genau bestimmen. Für die Bereiche im Standardfließmittel in denen auch das zweite Fließmittel (sowie die $KMnO_4$ - Reaktion) noch keine eindeutige Differenzierung ergeben, ist auf Tab. 3 und Abb. 2 noch ein drittes Fließmittel angegeben.

P R A K T I S C H E R F A L L (Verunreinigung)

Nachdem sich das oben beschriebene dünnschichtchromatographishhe System bereits in mehreren Fällen bewährt hatte, traten in einem Fall Schwierigkeiten auf:

Die unbekannte Substanz erschien beim Stamdardfließmittel in Gruppe 5. Da mit dem zweiten Fließmittel (Chloroform - Aceton) keine eindeutige Zuordnung möglich war, wurde ein drittes Fließmittel herangezogen (F 6 = Chloroform - n-Butanol - NH_3 70:40:1Ø). Hier traten plötzlich zwei Punkte in Erscheinung, wobei der obere Punkt das B. und der untere eine Verschmutzung war (UV - Spektrometer).

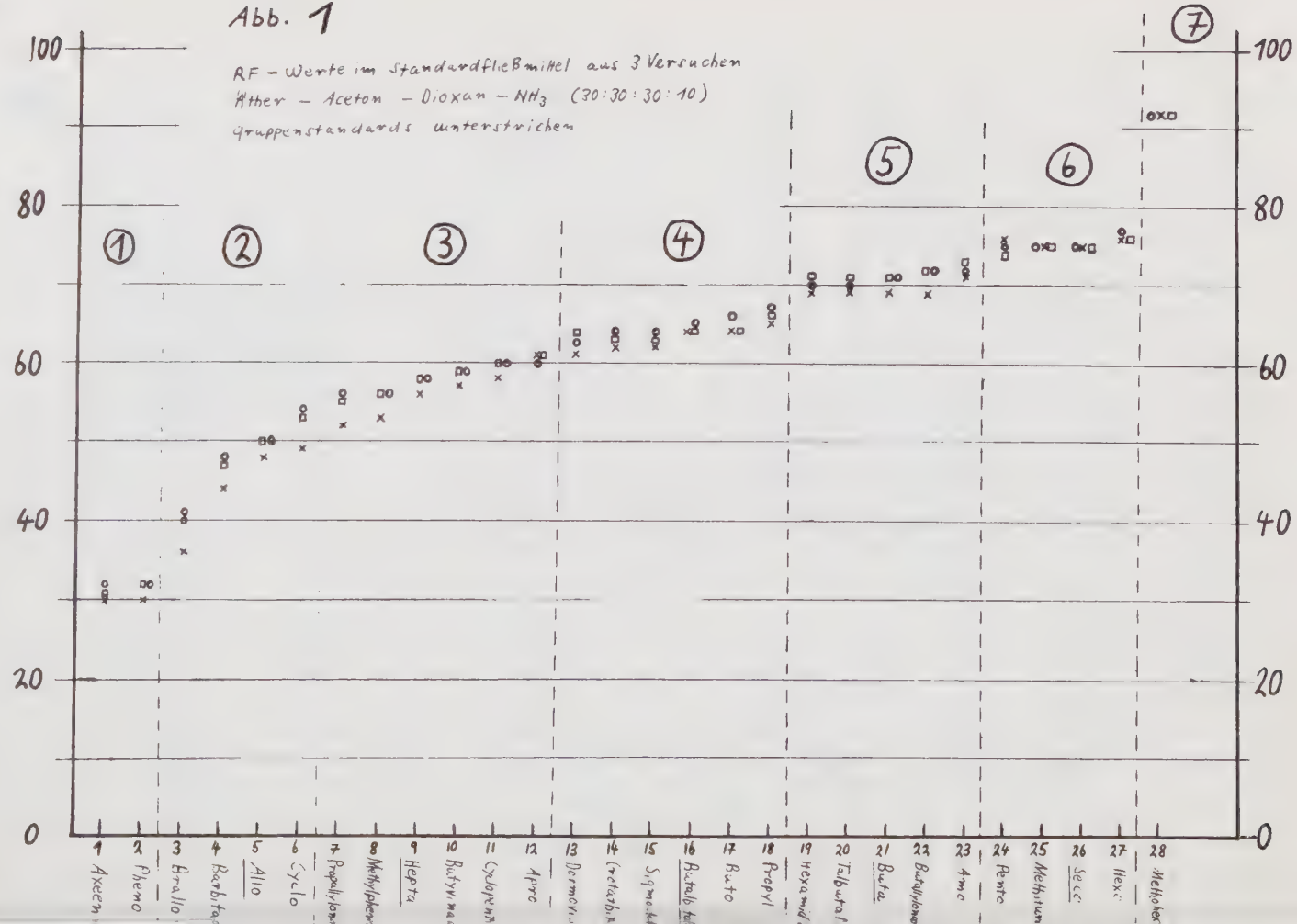
Das Fließmittel 6 konnte also ein Gemisch aus B. und einer Verschmutzung trennen, welches im Standardfließmittel und in Chloroform - Aceton in einem Punkt erschien und den RF-Wert sowie die $KMnO_4$ - Reaktion des B. (Pentobarbital) verfälschte.

Deshalb sollte man - wenn man eine Verschmutzung nicht ausschliessen kann - die unbekannte Substanz nebenbei in Fließmittel 6 laufen lassen.

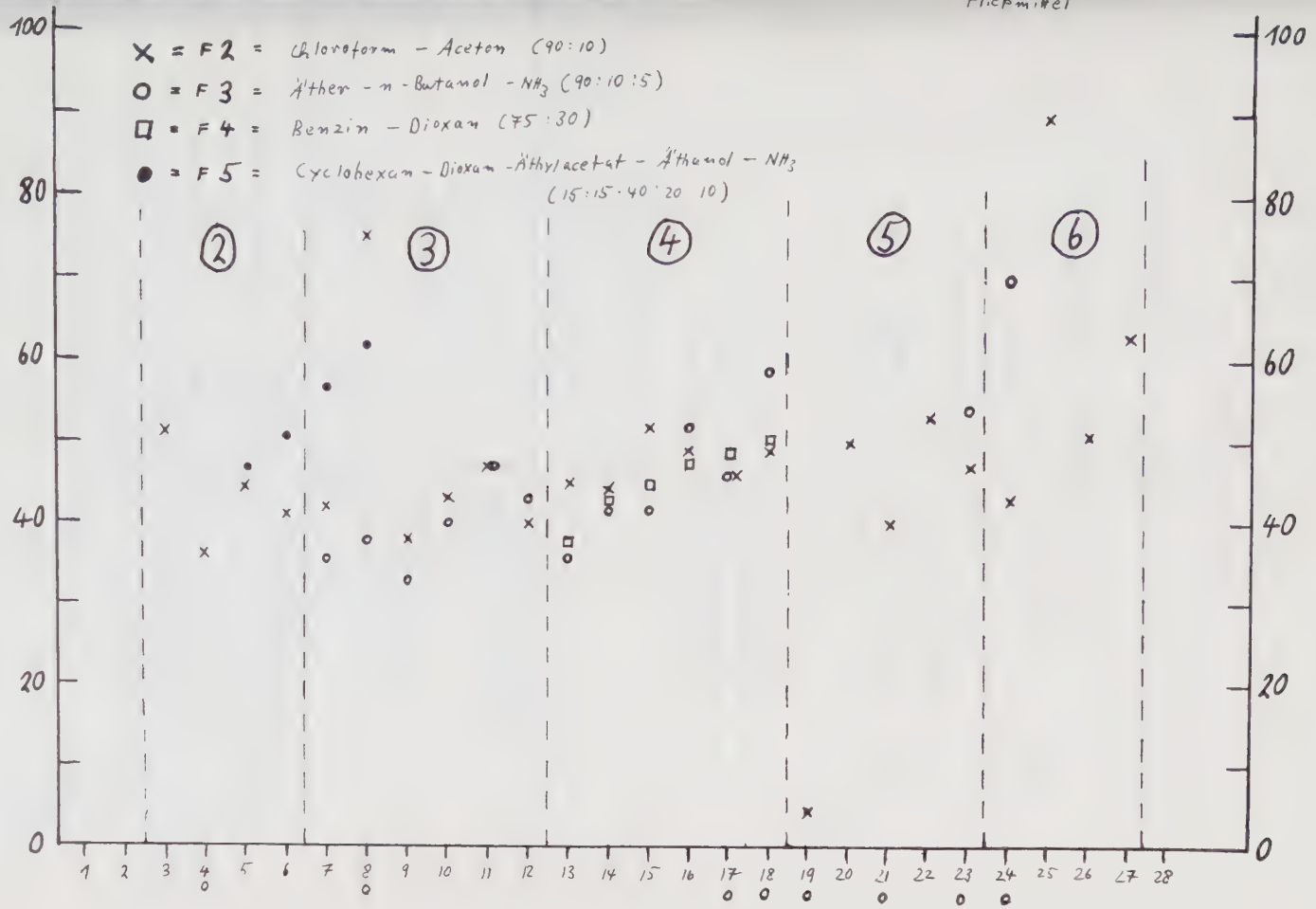
Oder einfacher bei Verwendung von Alu - Platten: Man besprüht nur eine Hälfte der im Standardfließmittel gelaufenen Platte mit $KMnO_4$, schneidet die andere Hälfte ab, und läßt diese ein zweites Mal in Fließmittel 6 laufen.

Abb. 1

RF – Werte im Standardfließmittel aus 3 Versuchen
Äther – Aceton – Dioxan – NH_3 (30:30:30:10)
Gruppenstandards unterstrichen



Fließmittel



○ = $KMnO_4$ – Reaktion negativ

Tabelle 3 :

Anleitung zur Auswahl des zweiten bzw. dritten Fließmittels

B = Barbiturat (z.B.: B5 = Allobarbital)

F 2 = Chloroform - Aceton (90:10)

F 3 = Aether - n-Butanol - NH_3 (90:10:10)

F 4 = Benzin - Dioxan (75:30)

F 5 = Aethylacetat - Aethanol - Cyclohexan - Dioxan - NH_3 (40:20:15:15:10)

Liegt das unbekannte B. nach dem Standardfließm. in bzw. zwischen Gruppe:	dann empfiehlt sich als zweites bzw. drittes Fließmittel:
1	B 1 : $KMnO_4$ - positiv B 2 : $KMnO_4$ - negativ
2	Trennung meist schon im Standard - fließm. eindeutig; sonst F 2
zwischen 2 und 3	F 5
3	F 3 (F 2)
zwischen 3 und 4	F 3
4	F 4 B14/B15/B16 = F 2 B17/B18/B19 = F 3
zwischen 4 und 5	F 3
5	F 2
zwischen 5 und 6	F 2 B23/B24 = F 3
6	F 2

INFRAROTSPEKTROSKOPIE

MIT REINSUBSTANZEN

a) Verwendete Geräte und Substanzen:

Mikrowaage
Mörser
Trockenofen
Preßform
Vakuumpumpe
Presse
IR - Spektrophotometer, Fa. Perkins - Elmer, 257

KBr
2,2 - Dimethoxypropan
Barbiturate als Reinsubstanz

b) Anfertigung der Preßlinge:

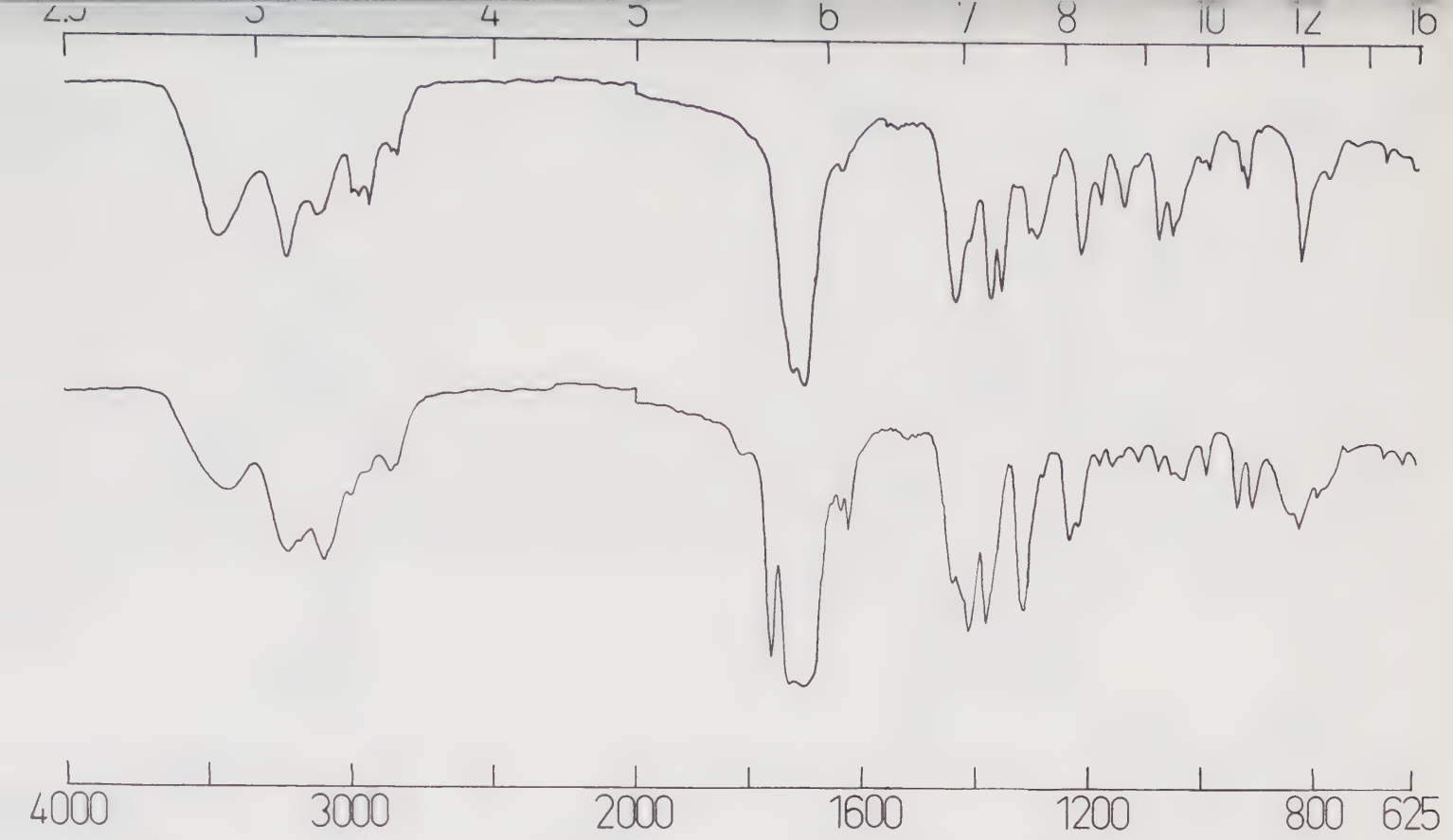
Auf der Mikrowaage wurden 300 mg KBr und 1,5 mg B. abgewogen. und im Mörser in einer 2,2 - Dimethoxypropan - Suspension sehr fein verrieben. Das 2,2 - Dimethoxypropan trägt wesentlich zur Elimination von Wasser bei.[13] Es reagiert mit Wasser unter endothermer Reaktion zu Methanol und Aceton. Bei 30 Grad reagieren im Gemisch 1 : 1 mit 2,2 - Dimethoxypropan ca. 96% des Wassers. Dann wurde das Gemisch im Mörser 10 - 20 min in den Trockenofen (100 - 110 Grad) gestellt.
Das trockene Pulver wurde mit einem Spatel in die Preßform eingefüllt und darin gleichmäßig verteilt. Um ein gutes Vakuum und eine gute Trocknung zu erzielen, wurde die Pumpe ca.10-15 Minuten an die Preßform angesetzt. Daraufhin wurde mit 15 Tonnen Druck gepreßt und der Preßling in den Haltering des Spektrophoto - meters eingelegt.

c) Neue Spektren:

Es wurden Spektren von allen 28 B. aufgenommen.
16 in der einschlägigen Literatur (8,21) noch nicht erschienene Spektren sind auf den nachfolgenden Abbildungen aufgeführt.
Es sind dies die Spektren der B.:

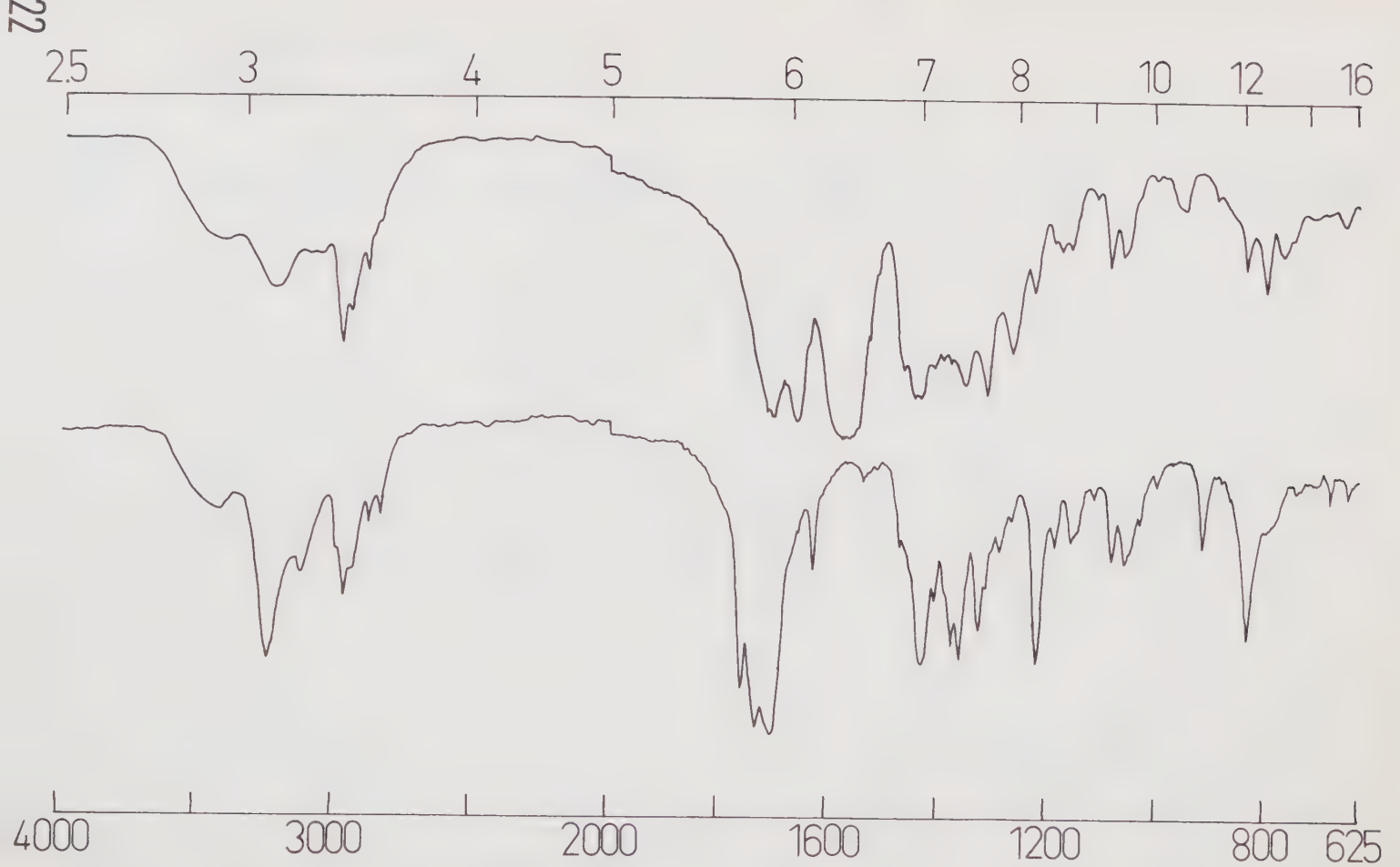
Axeen, Brallobarb., Butabarb., Butallylonal, Butyvinal, Crotarbital, Cyclopentobarb., Dormovit, Heptabarb., Hexamid, Methohexital, Propallylonal, Propylbarb., Secobarb., Sigmodal, Talbutal.

Obwohl von einigen B. mehrere Preßlinge angefertigt wurden, waren in den Spektren keine Anzeichen verschiedener Kristallmodifikationen zu erkennen.
Auch nach Sublimation von Veronal - wie bei Paulig, G a n s a u, K n o r r und E r b e (17) beschrieben -, und nach Erhitzen eines Luminal - Preßlings auf 150 Grad für eine Stunde - wie bei M e s l e y und C l e m e n t s beschrieben (15) - zeigten sich in den Spektren keine Abweichungen, die auf andere Kristallmodi - fikationen hingedeutet hätten.
Vielleicht läßt sich dies durch den hohen Druck und die hohe Wärme (15 t Druck, 100 - 110 Grad im Trockenschrank) mit der Bildung sehr stabiler Kristallmodifikationen erklären.



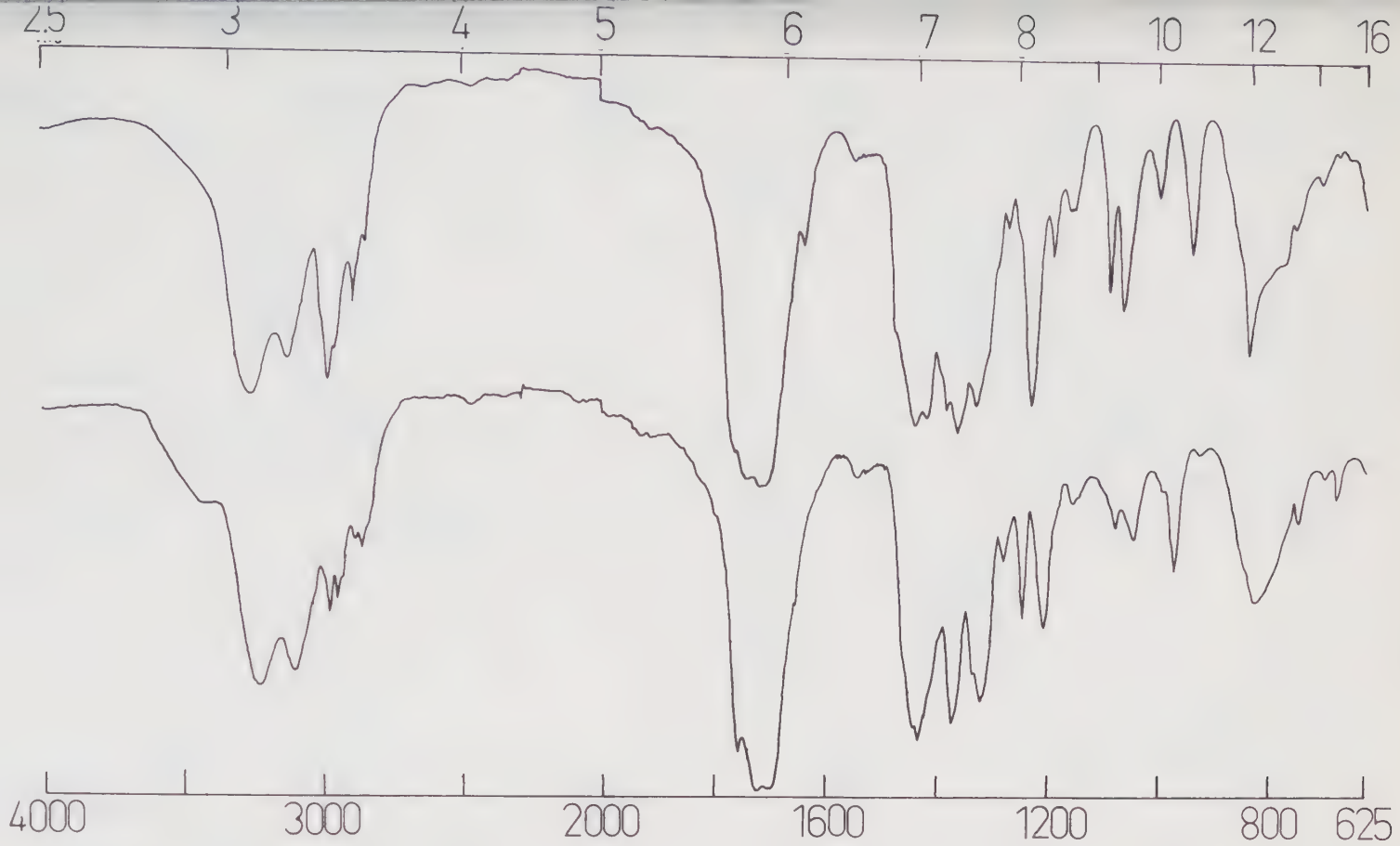
oben: Axeen
unten: Brallobarbital

Abb. 3



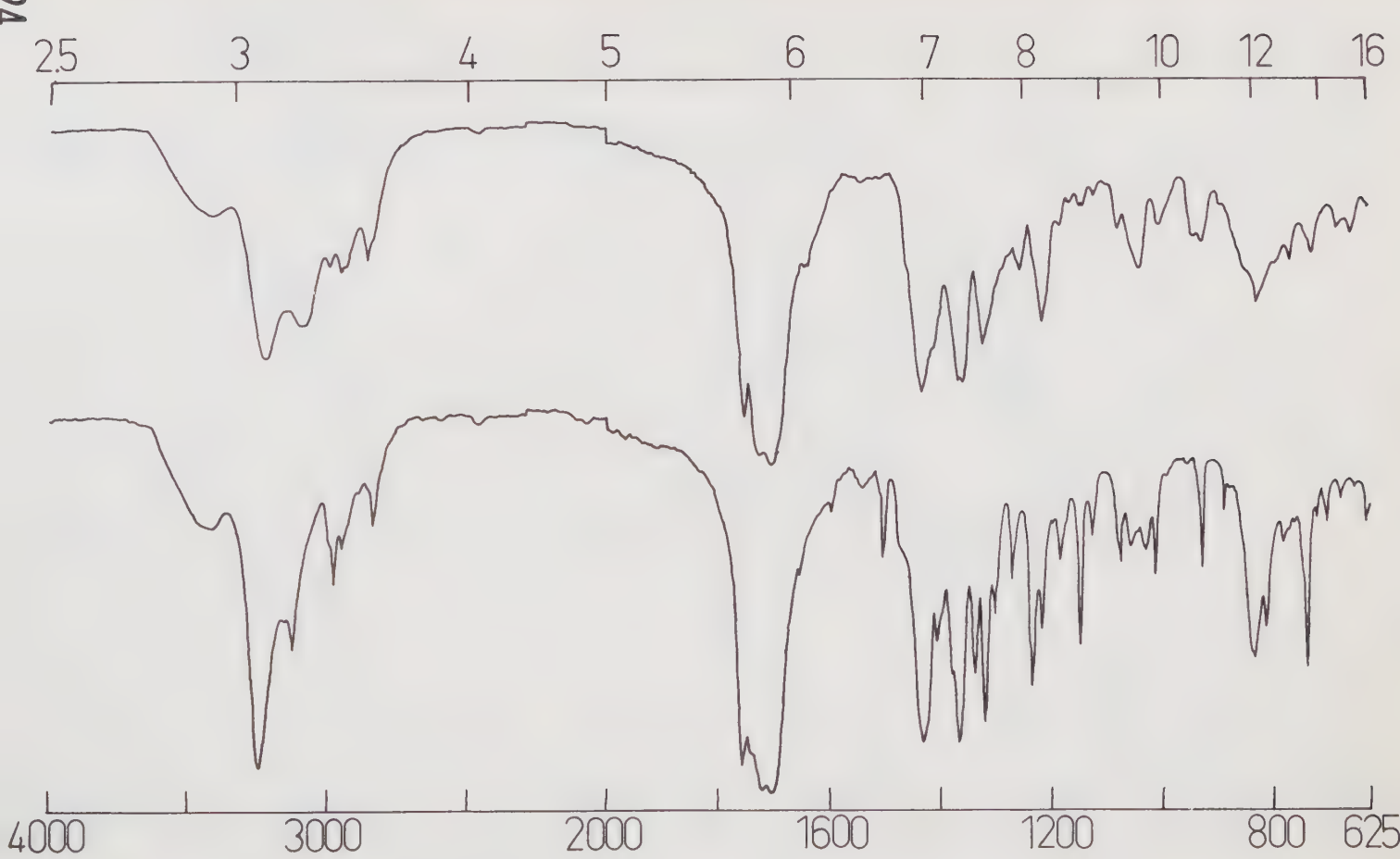
oben: Butabarbital

Abb. 4

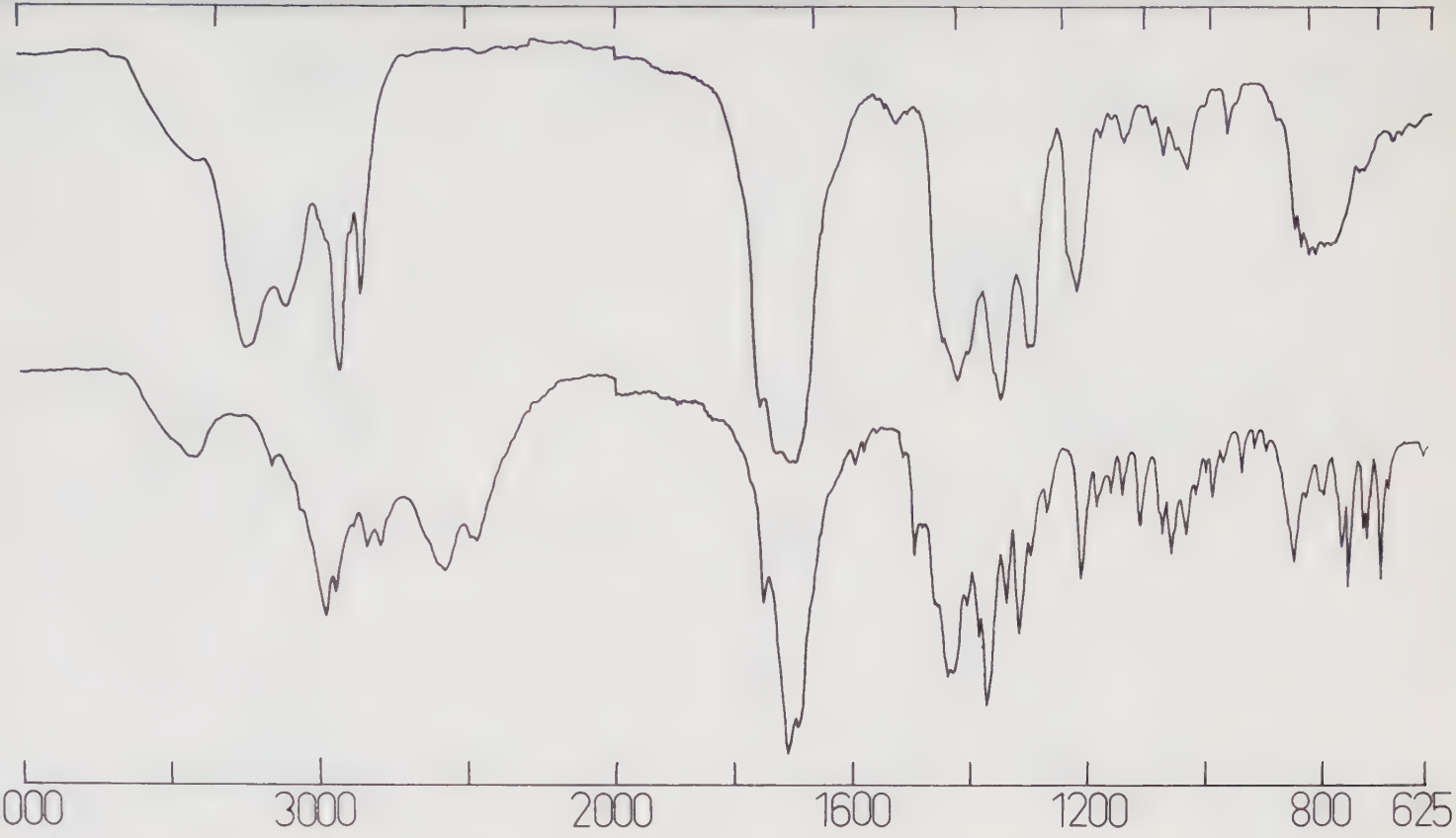


oben Butyvinal
unten Crotarbital

Abb. 5

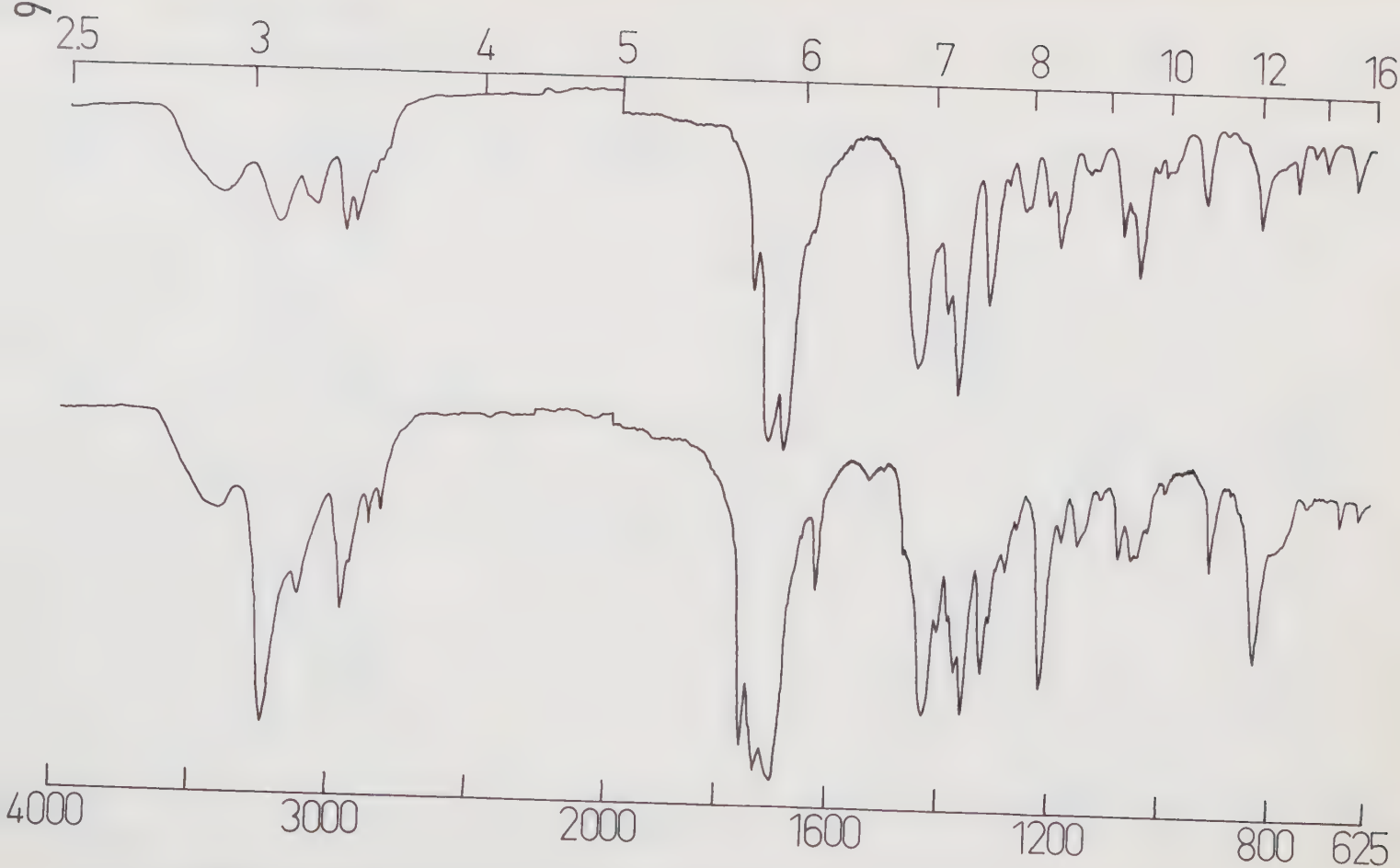


oben: Cyclopentobarbital

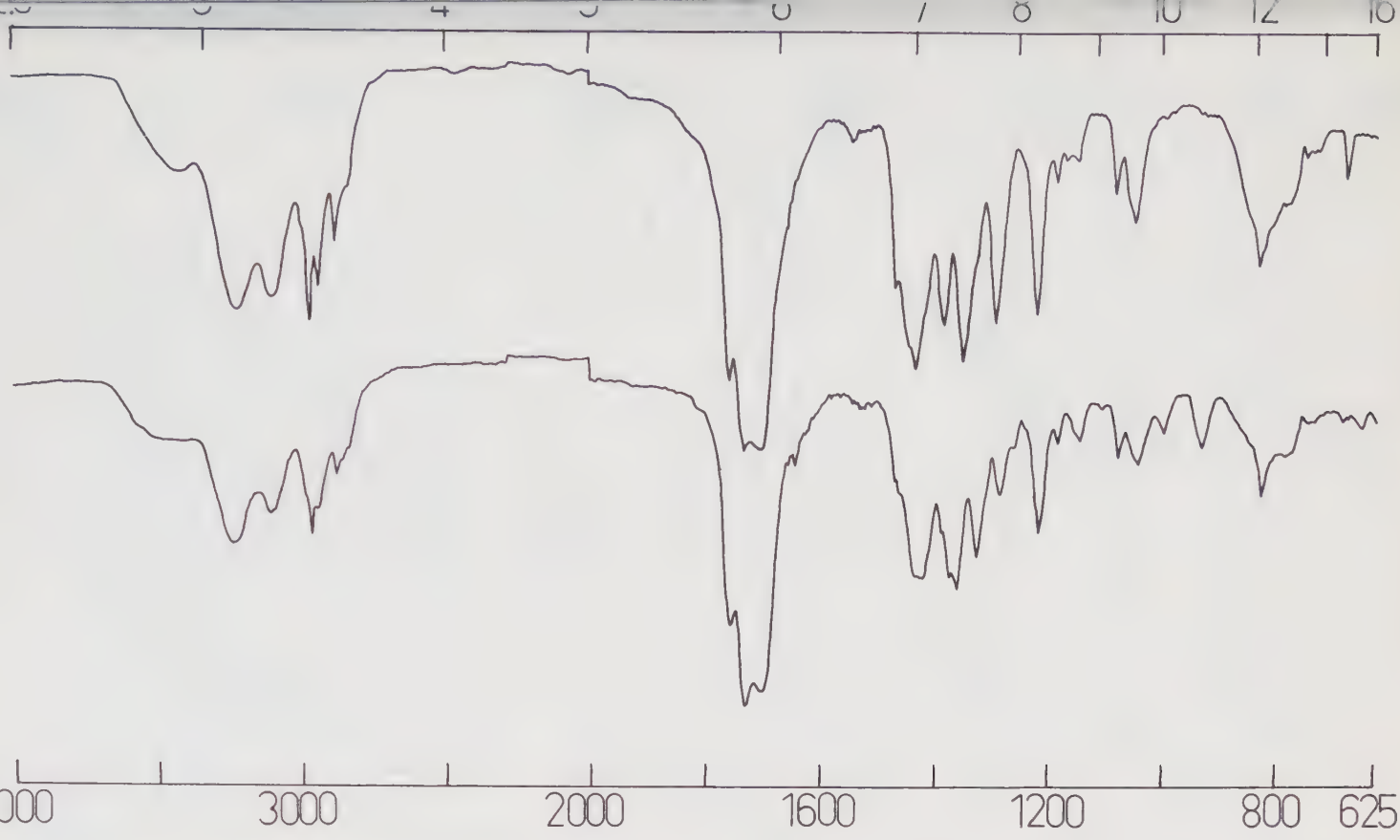


oben: Heptabarbital
unten: Hexamid

Abb. 7

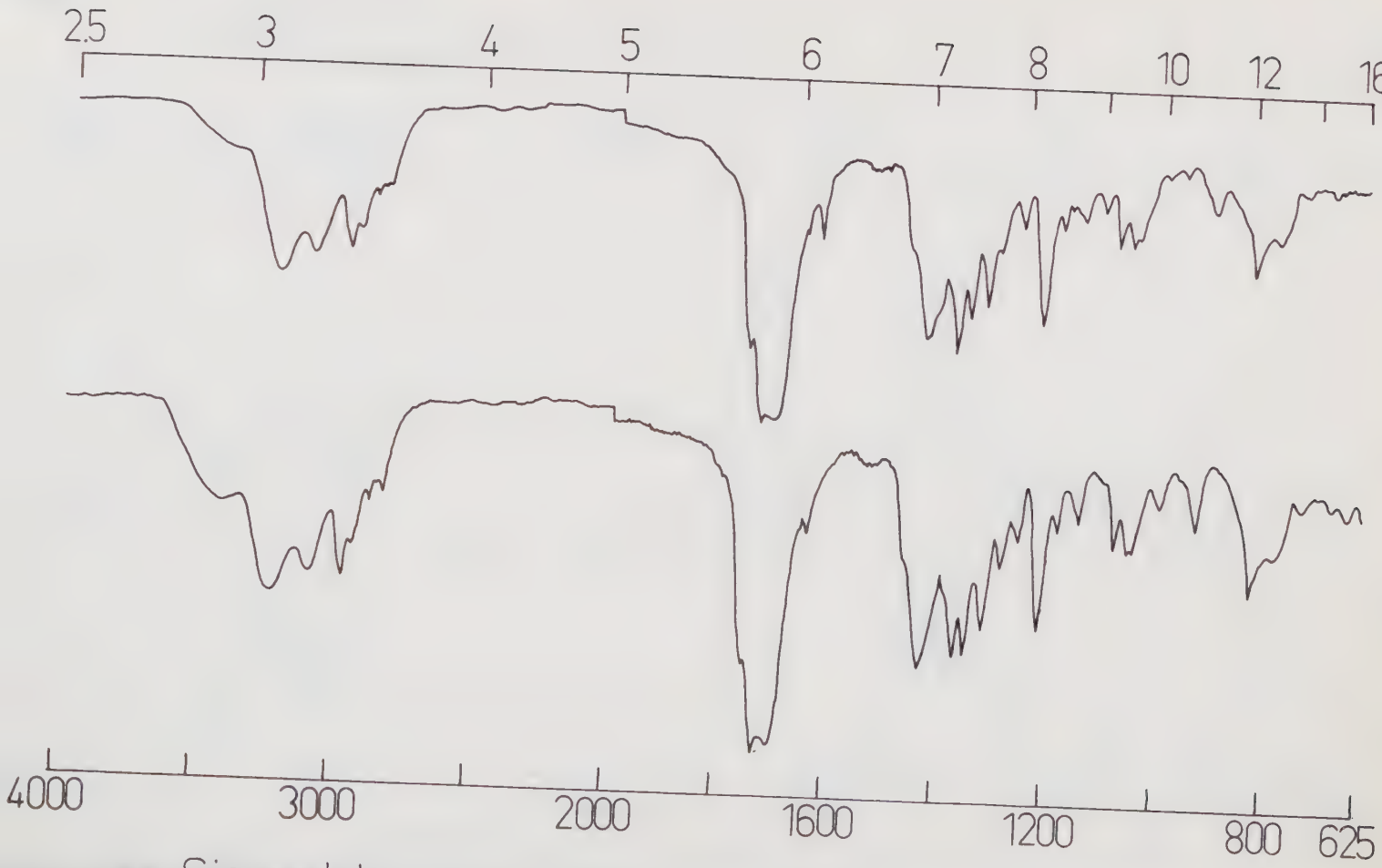


oben: Methohexital



oben Propylbarbital
unten: Secobarbital

Abb. 9



oben: Sigmodal

III. INFRAROTSPEKTROSKOPIE MIT BIOLOGISCHEM MATERIAL

a) Ausarbeitung einer Methode anhand eines praktischen Falles:

Im fraglichen Urin wurde mit dem unter B I d beschriebenen System dünnschichtchromatographisch Butyvinal (Speda) festgestellt. Es galt nun, diese Analyse durch ein entsprechendes IR - Spektrum zu bestätigen.

50 ml des fraglichen Urins wurden in einen Schütteltrichter gegeben, angesäuert und mit 3mal 50 ml Aether ausgeschüttelt. Der Aether wurde eingedampft und die übriggebliebene Substanz in 0,5 ml Aethanol gelöst. Diese Lösung wurde bandförmig auf eine DC - Platte aufgetragen. Trennung in Chloroform - Aceton (90:10). Die Barbiturat - Bande wurde durch Besprühen eines schmalen Seitenrandes der Platte mit $HgNO_3$ - Sprühlösung festgestellt und unter dem UV - 254 - Licht markiert. Im Verlauf der Barbiturat - Bande wurde das Kieselgel von der Platte abgekratzt und im Reagensglas in ca.20 ml Methanol gelöst. Diese Lösung wurde in einer Nutsche gefiltert.

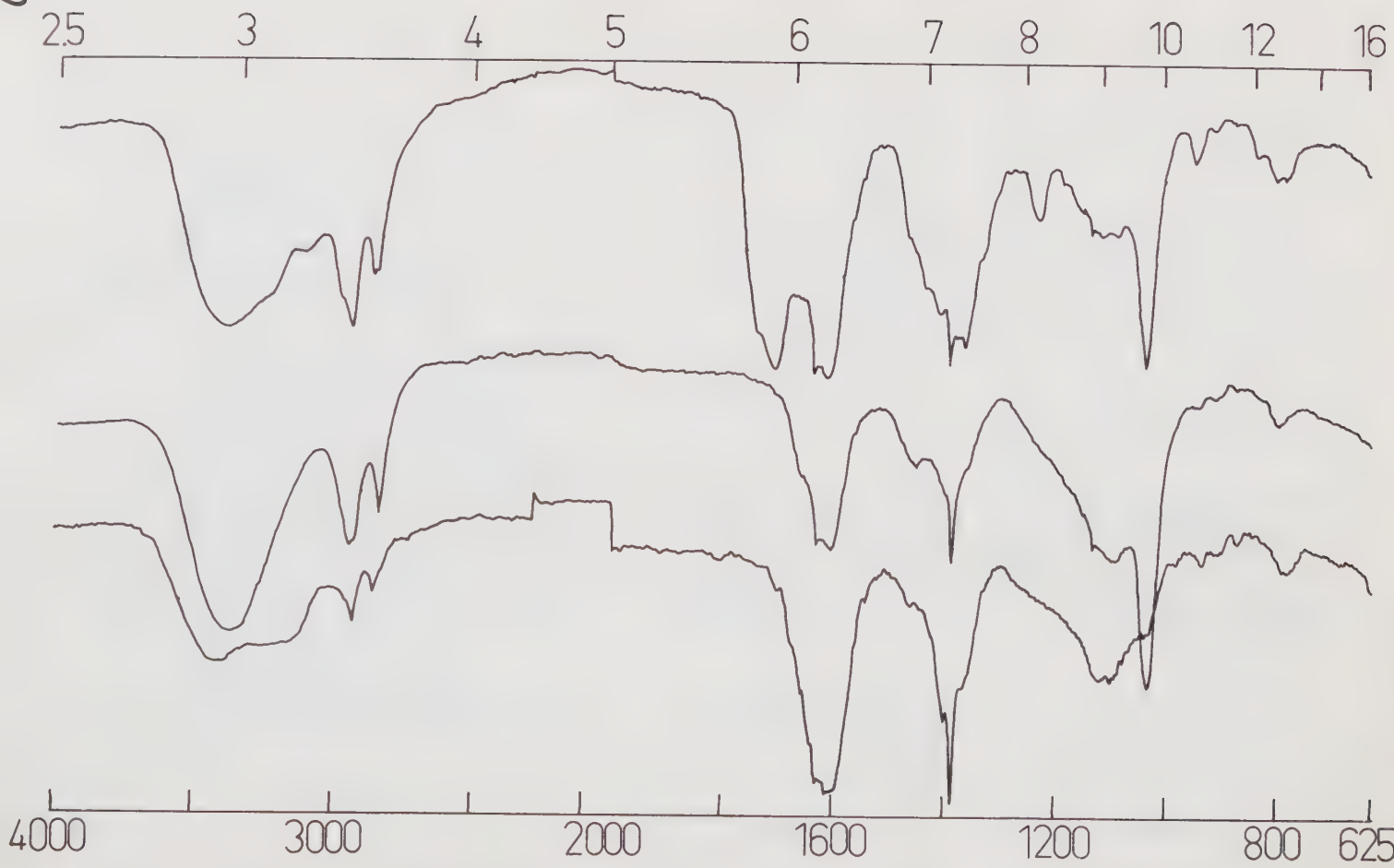
> D e K l e i n (*11*) schlägt vor, die DC - Platte bis auf das substanzhaltige Kieselgel abzukratzen, letzteres mit einem KBr - Wall zu umgeben, und dann die Substanz mit einem Lösungsmittel aus der Kiesel - gelschicht in das KBr zu spülen.
>
> B r a n n o n (3) stellt in einem Vergleich der gebräuchlichen Mikromethoden fest, daß bei de Klein's Methode recht viel Kieselgel ins KBr gerät. Nach seinen eigenen Versuchen ist das Sinterglasfilter zur Elimination des Kieselgels am besten geeignet.

Die gefilterte Methanol - Lösung wurde mit 300 mg KBr sehr fein verrieben. Diese Suspension wurde eingedampft und im Ofen getrocknet. Das Pulver wurde in die Preßform eingefüllt, vakuumextrahiert und gepreßt (15 Tonnen). Der Preßling wurde in den Haltering des Spektrophotometers eingelegt.

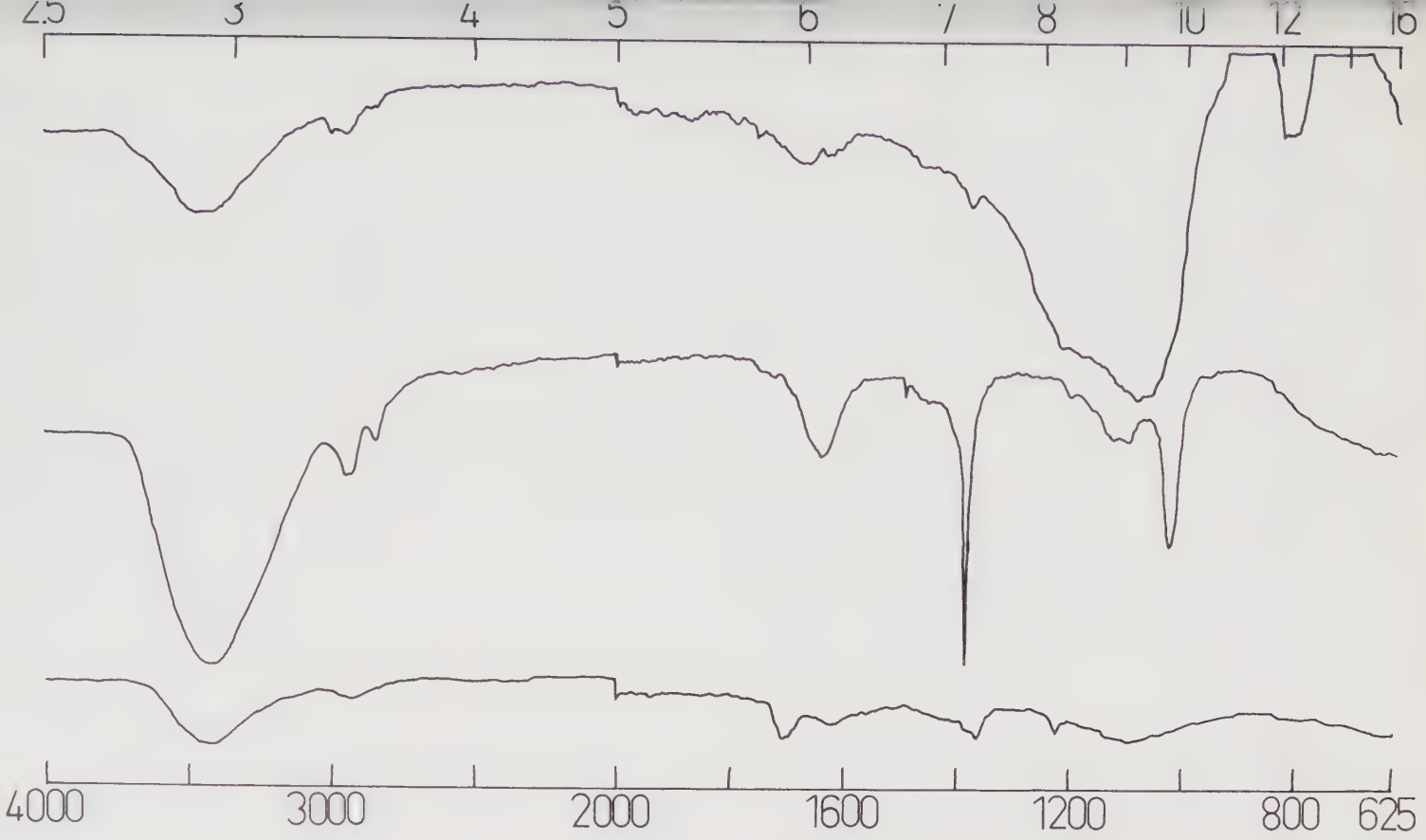
Das Ergebnis war ein Spektrum, das zwar einige Butyvinal - Peaks aufwies (Reinsubstanz - Spektrum siehe Abb. 5), aber ansonsten recht massive Extinktionen anderen Ursprungs, vor allem bei 1600, 1400 und 1030/cm (siehe Abb. 11).
Es wurde nun systematisch vorgegangen, um die Herkunft dieser unerwünschten Extinktionen herauszufinden (siehe nachfolgende Tabelle 4 und Abb. 12-16)

Tabelle 4 : Versuche zur Elimination der Störextinktionen

	VERSUCH	ERGEBNIS	FOLGERUNG
1.	Substanz nur auf eine Hälfte der Platte auftragen; Trennung; auf Höhe der Barbituratfraktion von beiden Hälften Kieselgel getrennt abgekratzt und normal weiterbehandelt	Spektrum von der Hälfte ohne Substanz zeigt alle Störextinktionen (Abb. 12)	Es liegt eine Verschmutzung beim Verfahren vor
2.	Kieselgel aus unbehandelter DC-Platte abgekratzt und normal weiterbehandelt	Spektrum zeigt alle Störextinktionen	Verschmutzung liegt nicht in Fließm. oder Kammer
3.	Kieselgel von verpackter DC-Platte abgekratzt und normal weiterbehandelt	Spektrum zeigt alle Störextinktionen (Abb. 13)	Keine Verschmutzung der DC-Platten durch Labordämpfe etc.
4.	a) reines Kieselgel ohne Binder b) reines Kieselgel mit Binder c) Kieselgel von DC-Platte abgekratzt } Kieselgel jeweils verschiedener Herkunft; je 1,5 mg mit 300mg KBr direkt zu Preßling verarbeitet	Normale Kieselgel - extinktionen (bei 1100 u. 800/cm) (Abb. 14)	keine Störextinktionen durch Kieselgelbinder unbekannter Art
5.	Methanol (ohne Kieselgel) gefiltert und normal weiterbehandelt	alle Störextinktionen außer von Kieselgel	Verschmutzung in Methanol oder Nutsche
6.	Nutsche gründlichst gereinigt; mit 100 ml Methanol vorgespült; 20 ml Methanol gefiltert; eindampfen; 15 Minuten bei 120 Grad getrocknet	alle Störextinktionen außer von Kieselgel (Abb. 15)	Störextintionen durch Methanol verursacht
7.	wie 6., aber mit Aceton	Spektrum wie KBr - Leerspektrum (Abb. 16)	Aceton als Lösungsmittel geeigneter



oben: Abb. 11



oben: Abb. 14 zu Versuch 4

Mitte: Abb. 15 zu Versuch 6

unten: Abb. 16 zu Versuch 7

Es zeigte sich also, daß die Störung beim Methanol lag (reinstes Methanol, p.a., Fa. Merck), was mit der Neigung des Methanols zur Wasserstoffbrückenbildung zusammenhängen könnte. Das Aceton besitzt noch den Vorteil, das Wasser besser aus dem Gemisch auszutreiben.

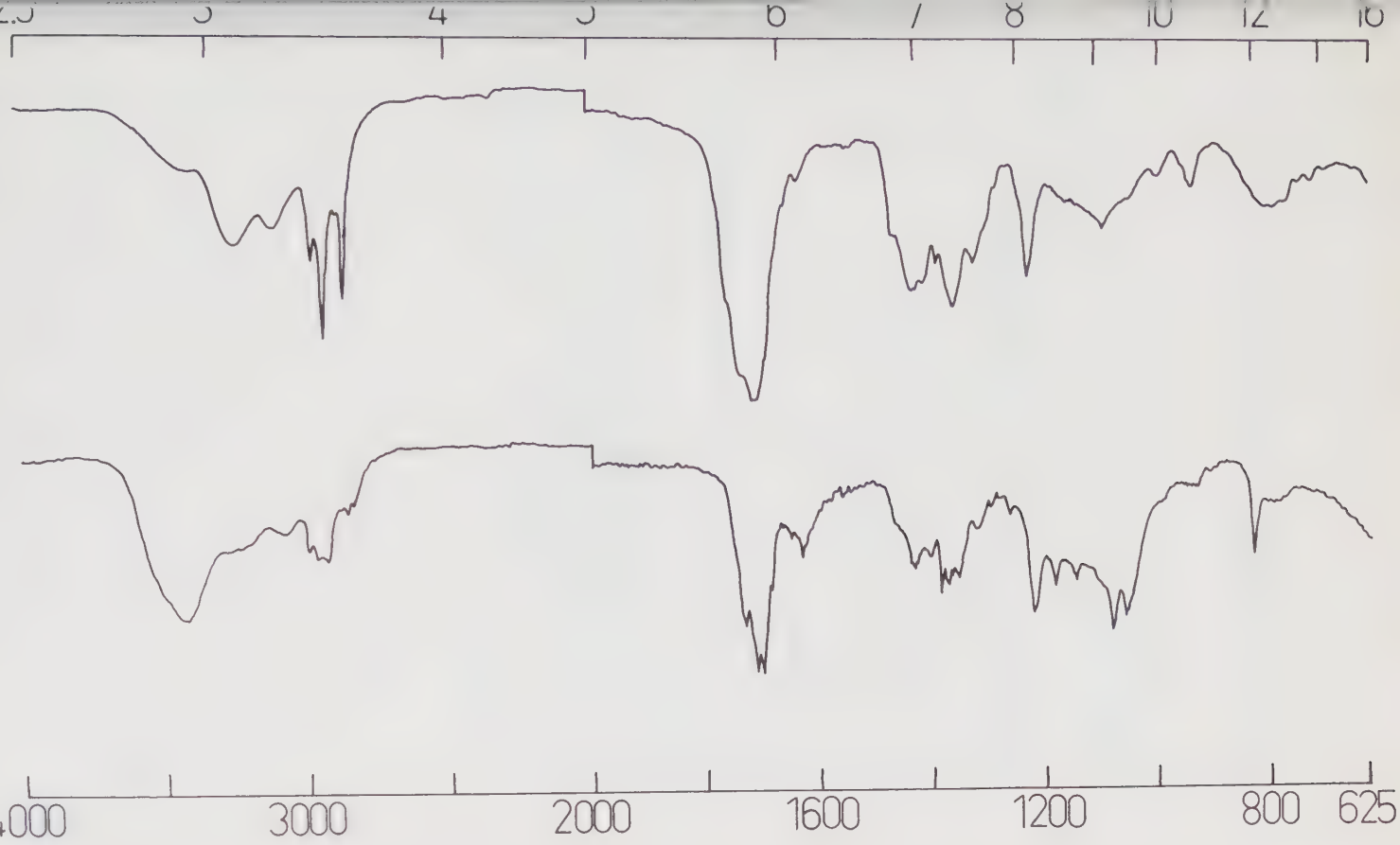
Nun wurde das ganze Verfahren mit 50 ml des Butyvinal-verdächtigen Urins wiederholt, und es ergab sich diesmal ein Spektrum, das mit allen wesentlichen Peaks des Reinsubstanzspektrums (Abb. 5) übereinstimmte (siehe Abb. 17).

Anschließend wurde noch ein Mikropreßling mit einem Bleireduzierring (Durchm. 3 mm) nach der Methode von P a t t (16) und K u h n angefertigt (Spektrum Abb. 18).

Die Substanzmenge wurde UV-spektrometrisch nach G o l d b a u m (9) bestimmt:

Es ergaben sich für: den Preßling: 203 ug

den Mikropreßling: 15,5 ug



oben: Abb. 17 Preßling

unten: Abb. 18 Mikropreßling

b) Beschreibung der Methode der Anwendung der Infrarotspektroskopie bei biologischem Material:

Urin in Schütteltrichter geben und ansäuern,

mit Aether ausschütteln,

eindampfen,

übriggebliebene Substanz in ca.0,5 ml Aethanol lösen,

Lösung bandförmig auf eine DC - Platte auftragen,

Trennung in Chloroform - Aceton (90:10),

Feststellung der Barbiturat - Bande (Besprühen eines schamlen Seitenrandes der Platte mit $HgNO_3$ - Lösung),

Markierung der Bande unter dem UV - 254 - Licht,

Kieselgel im Verlauf der Barbiturat - Bande von der Platte abkratzen,

Kieselgel im Reagensglas in ca.20 ml Aceton lösen,

Filterung inder Nutsche,

gefilterte Aceton - Lösung mit 300 mg KBr sehr fein verreiben,

eindampfen,

ca.10 Minuten bei ca.100 Grad trocknen,

Pulver in die Preßform bzw. Mikropreßform einfüllen,

ca.10 Minuten die Vakuumpumpe anschließen,

pressen (ca. 15 Tonnen),

Preßling bzw. Mikropreßling in den Haltering des Spektrophotometers einlegen.

ZUSAMMENFASSUNG

Aus der Untersuchung von 11 Fließmitteln und 28 Barbituraten wurde ein System entwickelt, das die Analyse eines unbekannten Barbiturates erlaubt.

Ausgangspunkt dieses Systems ist die Einteilung eines unbekannten, zu identifizierenden Barbiturates in eine Gruppe von 2 - 6 in Frage kommenden Barbituraten durch das Standardfließmittel

Diaethylaether - Aceton - Dioxan - NH_3 (30:30:30:10).

Aus vier weiteren Fließmitteln wählt man dann ein bzw, zwei geeignete zur genauen Differenzierung innerhalb der in Frage kommenden Barbiturate aus.

Das System hat sich im praktischen Laborbetrieb bereits mehrfach bewährt.

In der Infrarotspektroskopie wurden die Spektren von 16 Barbituraten, welche in den einschlägigen Lehr - und Handbüchern noch nicht erschienen sind, aufgenommen, und ein System zur praktischen Anwendung der Infrarot - spektroskopie bei biologischem Material ausgearbeitet.

In einem praktischen Fall wurde die Infrarotspektroskopie erfolgreich zur Sicherung einer DC - Analyse angewendet.

LITERATURVERZEICHNIS

1. Arnold, W., H.F. Grützmacher:
   Identifizierung von Barbiturat-Metaboliten mittels Massenspektrometrie und Infrarotspektrum
   Arch. Toxikol., 25, 200 - 215 (1969)

2. Bäumler, J., S. Rippstein:
   Pharmac. Acta Helvetiae
   38, 785, (1963)

3. Brannon, W.L.:
   Comparative Study of Micro Infrared Techniques
   J. of AOAC, 53, 3, (1970)

4. Clarke, E.G.C.:
   Isolation and Identification of Drugs
   The Pharmaceutical Press, London, 1966

5. v. Clarmann, M.:
   Arbeitsunterlagen für die Toxikologie

6. Eberhardt, Freund, Langbein:
   Arzneimittelforschung, 12, 1088 - 89

7. Frahm, M., Gottesleben, A., Soehring, K.:
   Arzneimittelforschung, 11, 1008, (1961)

8. Gadamer:
   Lehrbuch der Toxikologie
   Vanderhoeck, Ruprecht, Göttingen, 3. Aufl., 1966

9. Goldbaum, L.:
   Determination of Barbiturates
   Analyt. Chem. , 24, 10, 1604, (1952)

10. Keding, H., G. Schmidt:
Isolierung und Identifizierung von Brallobarbital - Metaboliten
Arzneimittelforschung, 19, 342 - 47, (1969)

11. De Klein,W.J.:
Infrared Spectra of Compounds separated by Thin Layer Chromatography Using a Potassium Bromide Micropellet Technique
Analyt. Chem., 41, 667, (1969)

12. Kuhnert - Brandstaetter,M.:
Thermomikromethoden zur Identifizierung von organischen Substanzen
in Gadamer: Lehrbuch der Toxikologie
Vanderhoeck, Ruprecht, Göttingen, 1966

13. Labo
Kennzifferzeitschrift für Labortechnik, 2, 2, 156 (1971)

14. Lehmann, I., V. Karamustafaoglu:
Scand. I. Clin. and Lab. Invest., 14, 554, (1962)

15. Mesley, R.I., R.L. Clements:
Infrared Identification of Barbiturates with particular Reference To The Occurence of Polymorphism
J. of Pharmacy and Pharmacology, 20 341 - 47, (1968)

16. Patt, P., P. Kuhn:
Halbmikrotechnik für KBr - Preßlinge
Aus der Praxis..., Tips GUK (1961)

17. Paulig, G., H. Gansau, P. Knorr, L. Erbe:
Über einige Besonderheiten beim infrarotspektroskopischen Nachweis von Barbituraten
Anal. Chemie, 193, 1, 28 - 33, (1963)

18. Ponsold, A.:
Lehrbuch der gerichtlichen Medizin
Thieme-Verlag, Stuttgart, 1967

19. Sali, M., M. Oesch:
J. Chromat., 14, 526, (1964)

20. Schmidt, G., B. Arold:
Über die Nachweisbarkeit von Trapanal im Harn
Arch. Toxikol., 16, 50 - 58, (1956)

21. Stahl, E.:
Dünnschichtchromatographie
Springer - Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, 1967

22. v.Street, H.:
Gas-Liquid Chromatography of Submicroamounts of Drugs
J. of Chromat., 41, 358-66, (1969)

23. Waldi, D., F. Munter, K. Schnackerz:
J. Chromatog. 14, 526, (1961)

24. Weidmann, H.:
Dissertation, Berlin, 1961

Am Schluß meiner Arbeit
erlaube ich mir, Herrn Dozent Dr. Hauck
für die Überlassung des Themas,
für die Genehmigung in seinem Labor
arbeiten zu dürfen
sowie für die Überlassung des erforderlichen
Materials meinen verbindlichen Dank
auszusprechen.

L e b e n s l a u f

Am 26. Oktober 1946 wurde ich als Sohn des Dipl.-Chemikers Prof. Dr. Ernst Komm und seiner Ehefrau Irene geb. Pohlinck in Dresden geboren.

1950 zogen meine Eltern nach Schliersee/Obb., 1953 nach Gräfelfing bei München, wo ich vier Jahre die Volksschule und neun Jahre das Kurt-Huber-Gymnasium besuchte.
1966 legte ich meine Reifeprüfung ab.

Im Wintersemester 1966/67 begann ich mein Medizinstudium in München und legte im Oktober 1967 die naturwissenschaftliche Vorprüfung und im April 1969 die ärztliche Vorprüfung ab.
Von Oktober 1969 bis Juni 1970 studierte ich in Grenoble.
Danach setzte ich mein Studium in München fort und legte im Juni 1972 die ärztliche Prüfung ab.